

志村義雄*・寺田節子**： アカウキクサの
赤色色素について

Yoshio SHIMURA* & Setsuko TERADA**： Preliminary study
on the red pigment appearing in *Azolla*
imbricata (Roxb.) Nakai

水生シダのアカウキクサは一般に秋から冬にかけて葉が紅葉する。この色素に関する研究は、現在までほとんど行なわれていない。筆者らは今回、アカウキクサの赤色色素について定性分析を行ない、下記の知見を得た。この研究にあたり、種々ご教示を賜った東京教育大学林孝三教授に深謝の意を表する。

材料、方法、実験および結果 材料としたアカウキクサは、志村¹⁾の調査した静岡県遠江南部地帯のうち、5カ所の自生地のものである。予備実験によってこの種に出現する赤色色素は Anthocyanin に属し、その Aglycone は Cyanidin および Pelargonidin に近似することが判明したので、同定の基準として、Cyanidin に対してはヤグルマギクの青花、Pelargonidin に対してはモンテンジクアオイの赤花を用いて比較実験を行なった。

方法はおおむね林⁶⁾に準拠して行なった。すなわち (A) 各種溶剤に対する溶出状態、(B) 酸、アルカリに対する呈色反応および酢酸鉛による沈澱物の色、(C) ペーパークロマトによる R_f 値、(D) クロマト上のスポットの紫外線下の蛍光反応ならびに塩化第二鉄溶液による呈色反応などを調査した。以下にその経過を述べる。

実験 (A) および結果 生鮮材料 (a) と乾燥材料 (b) とを用いた。材料 (a) は葉の表面の付着水をろ紙で十分に除去して細切し、材料 (b) は細粉した。溶剤はアセトン、エチルエーテル、ベンゾール、クロロフォルム、エタノール、メタノールおよび水道水を用いた。溶剤を各試験管に 5 ml ずつとり、これらへ試料 (a) は 0.2 g、試料 (b) は 0.03 g を加えて密栓し、強振した後、1時間室温にて放置し、アスベスト綿でろ過し、その各ろ液の色調を比較観察した。その結果を表 1 に示した。

実験 (B) および結果 試料は実験 (A) の場合と同じく、a, b の 2 種類とした。溶剤は 50% エタノール、50% メタノール、蒸留水、試薬としての酸は稀酢酸、稀塩酸、アルカリは 1% NaOH、酢酸鉛は 1% 水溶液を用いた。試料 (a) を各ビーカーに 10 g とり、各溶剤 100 ml をそれぞれ加え、30分間冷浸した後、アスベスト綿でろ過した。試

* 静岡大学教育学部生物学教室 Biological Institute, Faculty of Education, Shizuoka University, Shizuoka, Japan.

** 静岡県磐田東高等学校 Iwata Higashi High School, Iwata city, Japan.

表1 アカウキクサの赤色色素の各種溶剤に対する溶出状況

溶 剤	材 料 (a)		材 料 (b)	
	溶液の呈色	溶 出 程 度	溶液の呈色	溶 出 程 度
ア セ ト ン	黄 色	—	緑 色	—
エチルエーテル	緑 色	—	同 上	—
ベンゾール	黄 緑 色	—	同 上	—
クロロフォルム	淡 黄 色	—	黄 色	—
エタノール	淡 赤 色	+	淡 赤 色	+
メタノール	赤 色	+++	赤 色	++
水 道 水	赤 色	+	赤 色	+++

註：色名は岩本⁹⁾による（以下同様）。

表2 アカウキクサの生鮮試料 (a) および乾燥試料 (b) の赤色色素抽出液の呈色反応および沈澱色

抽 出 溶 剤		50%エタノール	50%メタノール	蒸 溜 水
原液および 添加試薬	材料			
原 液 の 色	a	マゼンタ	小豆色	朱 赤 色
	b	同 上	マゼンタ	暗 紅 色
稀 酢 酸	a	杏 色	杏 色	橙 色
	b	赤 鮭 色	緋 橙 色	テラコッタ
稀 塩 酸	a	杏 色	杏 色	橙 色
	b	赤 鮭 色	緋 橙 色	テラコッタ
1%NaOH	a	紫 紺 色	紫 紺 色	紫 紺 色
	b	同 上	同 上	同 上
1%酢酸鉛	a	緑紫色の沈澱	緑紫色の沈澱	蘇芳色の沈澱
	b	同 上	同 上	緑紫色の沈澱

料 (b) は赤色色素抽出の前処理として、なるべくクロロフィルやカロチンを除去するため、試料 2g ずつを各ビーカーにとり、あらかじめエーテル 50 ml を加え、30 分間放置した後、エーテルをろ去し、さらに試料に残留するエーテルを揮発させ、(a) と同じ方法で色素ろ液を調製した。両ろ液 (a, b) を各試験管 5 本に 10 ml ずつ分注し、各 1 本を対照（原液）に残し、他の 4 本に試薬をそれぞれ数滴ずつ滴下して混合し、その色調を比較観察した。この結果を表 2 に示した。

実験 (C) および結果

〔試料の調製〕: 生鮮アカウキクサ 10 g (A), モンテンジクアオイの赤色新鮮花 6 g (M), ヤグルマギクの青色新鮮花 10 g (Y) を各ビーカーにとり, 1%メタノール性塩酸 30 ml をそれぞれ加え, 冷蔵庫で 24 時間冷浸した後, アスベスト綿でろ過した。溶液の色は, (A) は赤銑色, (M) は深紅色, (Y) は緋色であり, (A) は黄色系に近く, (M, Y) は赤色系である。各ろ液をそれぞれ 20 ml ずつとり, エチルエーテル 60 ml をそれぞれに加えて強振し, 暫時放置した後, 分液ロートで色素溶液を分取する。これらに再び 1%メタノール性塩酸を 10 ml ずつ加えて粗試料とする。次に加水分解による Aglycone 試料の調製のために, 各粗試料へ 1%塩酸水 10 ml を加え, 直火で約 3 分間軽く煮沸する。(M, Y) の色は変化しなかったが, (A) は深紅色に変わった。等容の水とイソアミルアルコール 10 ml とを加えて強振した。静置すると, 上層 (イソアミルアルコールは各種とも深紅色, 下層 (水) は (M, Y) では赤色系, (A) では黄色系である。分液ロートで各上層だけを分取する。さらに精製するため, 1%塩酸水とベンゾールを各 20 ml ずつ加えて強振し, 下層を分取する。これにイソアミルアルコール 2 ml を加えて強振し, Aglycone を上層 (アルコール) に集める。この色は 3 種とも深紅色である。これらを展開用の試料とした。

〔クロマト試験〕: 展開には東洋ろ紙 No. 50 を用い, 上昇法によった。各試料をろ

表 3 アカウキクサ, モンテンジクアオイの赤色花およびヤグルマギクの
青色花から抽出した色素の Rf 値および各スポットの色 (1966年)

植物名	実験番号	展開剤	関係事項				試料の調製日 (月日)	ろ紙への添着日 (月日)	展開期日 (月日)	展開に要した時間 (時分)	展開日の温度 (℃)
			上部スポット		下部スポット						
			Rf 値	色	Rf 値	色					
アカウキクサ (A)	1	F・H・W	0.38	橙	0.22	マゼンタ	4-22	4-23	4-25	7.00	23.5°~24.5°
	2	A・H・W	0.50	橙	0.34		4-22	4-23	4-25	7.35	同上
	3	F・H・W	0.39	橙	0.20		12- 2	12- 2	12- 5	6.35	11°~12°
	4	A・H・W	0.48	橙	0.31		12- 2	12- 2	12- 5	5.45	同上
モンテンジクアオイ (M)	1	F・H・W	0.37	赤	0.24	マゼンタ	4-23	4-23	4-25	7.00	23.5°~24.5°
	2	A・H・W	0.50	赤	0.34		4-23	4-23	4-25	7.35	同上
	3	F・H・W	0.38	赤	0.20		12- 2	12- 2	12- 5	6.35	11°~12°
	4	A・H・W	0.48	赤	0.31		12- 2	12- 2	12- 5	5.45	同上
ヤグルマギク (Y)	1	F・H・W	—	—	0.25	マゼンタ	4-23	4-23	4-25	7.00	23.5°~24.5°
	2	A・H・W	—	—	0.37		4-23	4-23	4-25	7.35	同上

註: Pelargonidin⁶⁾ 0.36 (F・H・W), 0.59 (A・H・W)

Cyanidin⁶⁾ 0.22 (F・H・W), 0.34 (A・H・W)

紙の基線上に毛細管で 3 cm 間隔で添着し、同一原点に対してドライヤーを用いて 6 回ずつ添着を重ねた。展開溶剤は F・H・W (80% 蟻酸:36% 塩酸:蒸溜水=5:2:3) と A・H・W (酢酸:36% 塩酸:蒸溜水=5:1:5) の 2 種を用いた。この結果を表 3 に示した。

実験 (D) および結果

〔紫外線照射〕: 実験 (C) で得たペーパークロマトグラムの各スポットに対して、暗室で垂直に紫外線 (水銀灯) を照射し、各スポットの螢光色を比較観察した。その所見を表 4 に示した。

〔塩化第二鉄反応〕: ろ紙上のスポットの一部にごくうすい塩化第二鉄のエタノール溶液を毛細管により添着し、その呈色を比較観察した。その結果を表 5 に示した。

表 4 3 種 (A, M, Y) の色素 スポットの螢光色

色 素	紫外線による螢光	
	上部スポット	下部スポット
アカウキクサの色素(A)	赤 褐 色	バ ラ 色
モンテンジクアオイの色素(M)	緋 橙 色	同 上
ヤグルマギクの色素(Y)	—	同 上

註: Pelargonidin は Orange-red Cyanidin は Pink

表 5 3 種 (A, M, Y) の色素 スポットの塩化第二鉄反応

色 素	塩 化 第 二 鉄 反 応	
	上部スポット	下部スポット
アカウキクサの色素(A)	鳩 羽 色	不 明 確
モンテンジクアオイの色素(M)	ブドウ酒赤色	青 色
ヤグルマギクの色素(Y)	—	不 明 確

考察 アカウキクサの赤色色素は、アルコールや水に易溶であるため、カロチノイドではない。この色素が脂溶性溶剤に不溶、アルコールや水に易溶である点からすると、一応アントシアニンに属するとみられる。実験 (B) の結果からも、この色素は、酸性試薬の場合だけを除けば、アントシアニンに固有の呈色反応および沈澱色を示している。しかし酸性試薬では赤色味を増さなくて、むしろ黄色味を増す。この事実は Pelargonidin を含むアントシアニンにおいて、経験されることが多い。次にそのアントシアニンに

ついては、実験 (C), (D) の結果から、この色素の上部スポットの Rf 値は Pelargonidin にごく近い値を示しているが、その色は赤色 (M) でなくて橙色であり、その螢光色も橙赤色 (M) でなくて赤褐色であり、さらに塩化第二鉄反応もまたブドウ酒 赤色 (M) でなくて、鳩羽色である点などからすると、Pelargonidin とは見なしがたい。そこで Harborne⁸⁾⁹⁾ の示した表 6 をもとにして考えると、一応 Luteolinidin と Rosinidin とが問題となる。しかし後者は他の点でまず論外になる。特にアカウキクサの赤色色素のスポットの色が橙色であり、螢光色が赤橙色であることからして、クロマトグラム上部のスポットはおそらく Luteolinidin に相当すると見られる可能性が大きい。しかしそれ²⁾⁹⁾ は自然界ではごくまれにしか存在しないものであるから、最終的な結論は、今後の詳細な研究にまたねばならない。クロマトグラム上の下部のスポットは実験 (C, D) の結果から、Cyanidin であることはほぼ確定的である。

表 6 Harborne⁸⁾⁹⁾ による各種の Aglycone の
Rf 値, Spot の色および螢光色

Aglycone	F·H·W 5:2:3	Spot の 色	螢 光 色
Malvidin	0.27	Purple	Mauve
Petunidin	0.20	同 上	同 上
Delphinidin	0.13	同 上	同 上
Rosinidin	0.39	Magenta	Pink
Paeonidin	0.30	同 上	同 上
Cyanidin	0.22	同 上	同 上
Pelargonidin	0.33	Red	Orange-red
Luteolinidin	0.35	Orange	Red-brown
Apigenidin	0.44	Yellow	Yellow-brown

なお、この色素の同定の途上で、粗試料から Aglycone の調製までの段階において、アカウキクサの赤色色素の抽出液を酸性下で加熱したとき、その溶液の色が赤鮭色の黄色系から深紅色の赤色系へと深化した事実は、Leuco-anthocyanin¹⁾ の存在を暗示しているものであろう。

結論 アカウキクサの葉の赤色は 2 種類のアントシアニンによっている。それらの Aglycone の部分は、一方は Cyanidin であり、他方は Pelargonidin 系ではなくて、おそらく Luteolinidin 系の可能性がある。

文 献

1. R. Rosenheim: Biochem. Journ. **14**: 178, 1920.
2. D. D. Pratt and R. Robin-

son: Journ. Chem. Soc. **127**: 1135, 1925. 3. A. Leon & R. Robinson: Journ. Chem. Soc. **132**: 2732, 1931. 4. 服部静夫: 植物色素, 1941. 5. 岩本熊吉: 花色図鑑, 1942. 6. 林孝三: 植物色素実験法, 1954. 7. 佐竹一夫: クロマトグラフィー, 1955. 8. J. B. Harborne: Biochem. J. **70**: 22, 1958. 9. ———: J. Chromatog. **1**: 473, 1958. 10. Yuk Lin Ng & Kenneth V. Thimann: Archives of Biochem. Biophys. **96**: 336-339, 1962. 11. 志村義雄: 植研 **41**: 237-244, 1966.

Summary

The present paper deals with the qualitative analysis of red pigment appearing in *Azolla imbricata* (Roxb.) Nakai. The qualitative analysis was carried out by the method of the four kinds of experiments (A, B, C, D). As the results of the experiments, the red pigment of the species belongs to anthocyanin and the two kinds of aglycone are found in the red pigment, one of them is surely cyanidin and the other seems to be luteolinidin.

□福岡県帰化植物研究会: 帰化植物図譜 pp. i~vi, 1~292, 索引 1~8, 図 4 (内カラー 2), pl. 133, 図 5, 表 3, ほかに小型分布図 38, 第一学習社, 1967 年 6 月, ¥1,600. 福岡県産の材料を用いて 187 項目の種, 変種などにまとめ, さらに 7 変種を関係のある項目に加え, これらを 133 の図版におさめた。久内清孝教授の「帰化植物」1950 年以後この種のはじめての単行本。著者らは現在の日本の帰化植物の数を 430 ぐらいと推定しているが, 福岡県におけるものに限る, かつ帰化植物の範囲をより厳密にとった。1 章, 帰化植物に関する諸分野の話題。2 章, 県産のものリスト。3 章, 各論, 本著の主要部で (pp. 24~269), 本文は形態のほかに「帰化状況」の項目をもうけて, 分布の歴史, 生態, 時に異説の紹介もあり, 末尾に主要な日本の文献を各項目ごとに加えた。同属の各種の検索表もある。図版は多くは部分図を伴っていて明快である。7 種の新和名があり, 4 種は日本での新報告。4 章, 北九州における帰化植物の侵入繁殖の状況。5 章, 101 名からのアンケート回答による全国的な分布調査が図を伴って一部紹介された。16 人の先生方による約 5 年をかけた労作で, そのチーム・ワークによって本書ができた。全国共通, 特に大都市に共通のものが多く帰化植物のことであるから, この好著が多くの愛好者, 研究者に大きい利益をもたらすことは間違いない。

(津山 尚)